



Generation and Characterization of Mice with Mutations in Mitochondrial Genome for Examination of Mitochondrial Theory of Aging

著者	三藤 崇行
発行年	2015
その他のタイトル	ミトコンドリアゲノム突然変異導入マウスの作製と病態解析による老化ミトコンドリア原因説の検証
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2014
報告番号	12102甲第7323号
URL	http://hdl.handle.net/2241/00125989

氏名（本籍）	三藤 崇行		
学位の種類	博 士（ 理 学 ）		
学位記番号	博 甲 第 7323 号		
学位授与年月日	平成 27 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Generation and Characterization of Mice with Mutations in Mitochondrial Genome for Examination of Mitochondrial Theory of Aging (ミトコンドリアゲノム突然変異導入マウスの作製と病態解析による老化ミトコンドリア原因説の検証)		
主査	筑波大学教授	理学博士	林 純一
副査	筑波大学教授	博士（理学）	中田 和人
副査	筑波大学教授	学術博士	橋本 哲男
副査	筑波大学教授	医学博士	中谷 敬

論 文 の 要 旨

個体老化はもっとも複雑な生命現象のひとつであり、その分子機構に関しては数百の仮説が提唱されている。それらの仮説のなかでも中心的な役割を果たすと考えられているものに、老化ミトコンドリア原因説がある。同仮説は、加齢に伴うミトコンドリアゲノム（mtDNA）への突然変異の蓄積がミトコンドリアの呼吸機能低下と活性酸素種（ROS）の過剰産生を引き起こし、ROS がさらなる mtDNA 突然変異を誘発するという悪循環が老化を引き起こすことを主張している。近年、同仮説を実験的に証明するモデル動物として mtDNA mutator mice の作製が報告された。mtDNA mutator mice は mtDNA ポリメラーゼである polymerase gamma（*Polg*）に校正機能破壊（D257A）変異を導入したノックインマウスであり、加齢にともなう mtDNA への突然変異蓄積の促進とミトコンドリア呼吸機能の低下、さらに個体表現型としては脊柱後弯や脱毛などの早期老化が誘導される。mtDNA mutator mice の解析結果から、老化ミトコンドリア原因説は実験的根拠を得たが、その一方で、新たに 2 つの矛盾が生じた。まず、mtDNA mutator mice の早期老化表現型は ROS の過剰産生を経ずに引き起こされることから、加齢にともなう ROS の過剰産生ではなくミトコンドリア呼吸機能低下そのものが老化を引き起こすという新たな老化ミトコンドリア原因説が提唱されたが、これは、大規模欠失突然変異型 mtDNA（ Δ mtDNA）を導入したマウス（mito-mice Δ ）が mtDNA mutator mice と同様のミトコンドリア呼吸機能低下を呈するにもかかわらず、早期老化表現型を呈さないことと明らかに矛盾する。つぎに、*Polg* の校正機能破壊によってもたらされるランダムな mtDNA 突然変異がミトコンドリア呼吸機能低下を引き起こすことは、細胞内の mtDNA の大部分が同一の突然変異を持たない限りその病原性は発揮されないという従来の定説と矛盾する。

本研究ではこれら 2 つの矛盾を検証するために、*mito-mice Δ* と同一の C57BL/6J (B6J) 系統の核ゲノム背景を有する *mtDNA mutator mice* を新たに作製し、*mito-mice Δ* ならびに野生型 *mtDNA* を有する B6J 系統の老化マウスとの比較解析を行った。また、野生型の核ゲノムと *mtDNA mutator mice* 由来の *mtDNA* を有する細胞を作製し、その呼吸機能と呼吸機能低下機構を解析した。本研究において新たに作製した B6J 系統の核ゲノム背景を有する *mtDNA mutator mice* は、先行研究で報告されていた早期老化表現型のうち、脱毛と白髪を呈さなかった。一方、*mito-mice Δ* においては骨粗鬆症や筋萎縮などの早期老化表現型が新たに確認され、*mito-mice Δ* と *mtDNA mutator mice* の間に存在した早期老化表現型の有無に関する矛盾は、両者の核ゲノム背景の違いに一部起因することが明らかとなった。また、筋萎縮を引き起こす分子機構は *mtDNA mutator mice* と *mito-mice Δ* との間では共通するが、老化マウスにおけるものとは異なることが示された。野生型の核ゲノムと *mtDNA mutator mice* 由来の *mtDNA* を有する細胞において、ミトコンドリア呼吸機能の低下と *mtDNA* 点突然変異の存在が確認されたが、欠失突然変異型 *mtDNA* の存在は確認されなかったことから、*mtDNA* のランダムな点突然変異がミトコンドリア呼吸機能低下を引き起こすという、従来の定説とは異なる現象の存在が強く示唆された。さらに、*Polg* の D257A 変異をヘテロで有するマウス (*heterozygous mtDNA mutator mice*) は、B6J 系統の核ゲノム背景において、野生型マウスよりも高い頻度で B 細胞性リンパ腫を発症することが明らかとなった。

本研究の遂行によって、*mtDNA mutator mice* が呈する病態およびその発症機構は、*mito-mice Δ* との間で共通するが、老化マウスにおけるそれらとは異なることが明らかとなった。すなわち、ミトコンドリア呼吸機能低下が直接老化を引き起こすという新たな老化ミトコンドリア原因説は、その実験的根拠を失ったことになる。また、本研究の結果は、*mtDNA mutator mice* は老化ではなくミトコンドリア病の症状を呈するモデルマウスに位置付けられるのが妥当であることを示唆している。

審 査 の 要 旨

本論文では、老化モデルマウス (*mtDNA mutator mice*) とミトコンドリア病モデルマウス (*mito-mice Δ*) を活用して、老化ミトコンドリア原因説の検証を行っている。加齢にともなう多様な突然変異型 *mtDNA* 分子種の蓄積とこれによるミトコンドリアの異常が老化の原因とする仮説が広く受け入れられつつある現在、老化モデルであると考えられてきた *mtDNA mutator mice* の病態表現型がミトコンドリア病モデルである *mito-mice Δ* のそれと酷似することを分子生物学ならびに細胞生物学的に立証した点は、基礎生物学領域の研究として高く評価できる。さらに、ヘテロ接合型の *mtDNA mutator mice* が B 細胞性リンパ腫を発症することを突き止めた点は、突然変異型 *mtDNA* 分子種が関与する多様な病態発症機構を解明するための先駆的な成果となり、独創性に秀でていると評価できる。

平成 27 年 2 月 2 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。